

# 宇宙環境による作物の生存能力と遺伝子発現への影響

杉本 学

岡山大学・資源植物科学研究所

〒710-0046 岡山県倉敷市中央 2-20-1

## Effect of space environment on crop viability and gene expression

Manabu Sugimoto

Institute of Plant Science and Resources, Okayama University

2-20-1 Chuo, Kurashiki, Okayama 710-0046, Japan

Key words: Gene expression, Long-lived mRNA, Oxidative stress, Seed viability, Space environment

DOI: 10.24480/bsj-review.11a7.00179

### 1. はじめに

ガガーリンが人類で初めて宇宙を飛行してから半世紀以上が経過し、今や人類の有人探査は月を越え火星にまで足を延ばそうとしている。人類が地球から遠く離れた宇宙空間で長期にわたり滞在し活動する場合、食料自給のために月や火星で作物を栽培する必要がある。そのため、微小重力、宇宙放射線、電磁場等の地球上とは全く異なる宇宙環境が植物の発生、成長、世代交代等に与える影響を調べることは宇宙環境での保存や栽培に適した作物の開発に必要であり、宇宙科学研究のなかでも重要な課題のひとつである。

宇宙環境は生体の細胞や DNA に損傷を与え変異、生育阻害、死滅をもたらす可能性がある。Long Duration Exposure Facility (LDEF) による植物種子を 69 ヶ月間宇宙空間で保管した実験では (Alston 1991)、シロイヌナズナでは発芽や花形成が遅延 (Zimmermann *et al.* 1994)、イネでは発芽後伸長や細胞分裂が進まず (Bayonove *et al.* 1994)、トウモロコシでは葉鞘や幼少体の変色や矮性化 (Mei *et al.* 1994) が観察された一方、トマトでは発芽や収穫量に変化は生じなかった (Kahn 1996)。また、宇宙放射線と微小重力の相乗効果によりフリーラジカルが多量に発生し、生体内で酸化ストレスを引き起こすことがこれまでの宇宙実験で報告されている。90-180 日間宇宙に滞在した宇宙飛行士尿中の酸化ヌクレオチドが増加 (Stein 2002)、100-150 日間宇宙に滞在したマウス赤血球中の脂質過酸化が増加 (Rizzo *et al.* 2012) した。植物では、過重力やクリノスタット装置による微小重力下のシロイヌナズナ幼少体やカルスはシグナル伝達遺伝子、リン酸化/脱リン酸化遺伝子、ストレス応答遺伝子の発現量が増加 (Martzivanou & Hampp 2003, Barjaktarović *et al.* 2007, 2009)、シロイヌナズナ 7 日目幼少体をスペースシャトルで宇宙へ搬送し 5 日間栽培するとヒートショックプロテイン (HSP)、乾燥ストレスで誘導されるカルシウム結合タンパク質、MADS-box タンパク質、mitogen-activated protein kinase (MAPK) の遺伝子が地上コントロールと比べ 4 倍以上増加 (Paul *et al.* 2005)、スペースシャトル内で 12 日間培養したシロイヌナズナ培養細胞ではヒートショック、塩、乾燥、金属、傷等ストレス条件下で誘導される遺

伝子が5倍以上増加(Paul *et al.* 2012)した一方、国際宇宙ステーション(ISS)内で栽培収穫したコムギと四世代にわたり栽培したエンドウは収量、発芽率、DNAに変化は無かった(Gostimsky *et al.* 2007, Levinskikh *et al.* 2002, 2005)。このように植物種の違いにより宇宙環境に対する応答が異なるため、食料となる作物に対する宇宙環境の影響の解明が必要である。しかし、ISSに設置している植物栽培装置の数、大きさや利用時間等の制限により作物を用いた長期間にわたる宇宙環境での実験は非常に限られている。

本稿では、宇宙環境で生育する作物が受けるストレスの解明を目指して2006年と2010年実施したISS実験「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2)、船外に長期保管した作物種子の生存能力の解明を目指して2007年と2011年に実施したISS実験「ISS船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk)の結果について紹介する。

## 2. ISS船内で生育する作物の遺伝子発現

2006年に行った「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2)ではオオムギ(*Hordeum vulgare* L. var. Haruna nijo)種子をISSロシアモジュールZvezdaに設置している植物栽培装置LADAのルートユニットにセットし、日照24時間、温度22~27°C、湿度40~60%の条件下で栽培した(Shagimardanova *et al.* 2010)。種子は3日目に発芽し発芽率は90%以上であった。26日目には桿長

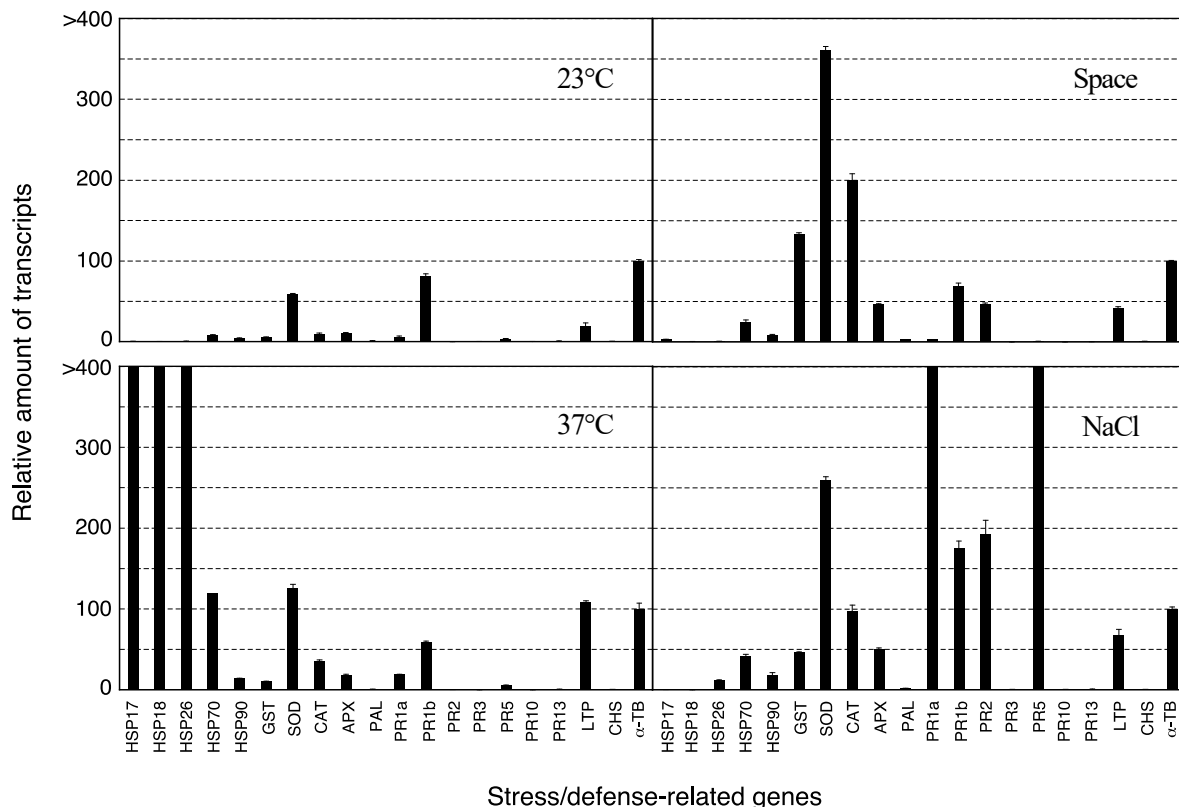


図1. 宇宙環境, 塩ストレス(100 mM NaCl), 高温ストレスに曝露したオオムギのストレス応答・防御遺伝子の発現量

発現量は、 $\alpha$ -チューブリン発現量を1とした相対発現量で表している。

50~60 cm まで生育し止め葉の展開も認められた。この結果は地上で同条件により栽培したオオムギとほぼ同じであり、ISS 内ではオオムギ種子の発芽と生育は宇宙環境により影響を受けないことが明らかになった。26 日間の栽培後に収穫したオオムギ地上部を保存液 RNAlater に浸漬し地上へ搬送し RNA 発現量をマイクロアレイと RT-PCR で解析したところ、地上で同条件で栽培したオオムギに比べ 2 倍以上有意に変動する遺伝子が約 500 個あり、活性酸素種(ROS)消去関連酵素であるグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、カタラーゼ(CAT)、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)の遺伝子発現量がそれぞれ9, 5, 2, 4 倍増加した。これら遺伝子に加え環境ストレスで発現が誘導される HSP と感染特異的タンパク質(PR)遺伝子の発現量の変動を調べると、宇宙環境で生育するオオムギでは高温ストレスや塩ストレスで起こる遺伝子発現変動とは異なる応答を示した(図1)。

宇宙環境で生育するミズナ(*Brassica rapa* L. var. *nipposinica* (L. H. Bailey) Kitam.)でも同様の酸化ストレスが引き起こされる可能性について調査するため、2010 年に行った「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2)ではミズナ種子を LADA で栽培した(Sugimoto *et al.* 2014)。栽培 28 日目に収穫したミズナ地上部を直ちに超低温庫で保存し地上に搬送し RNA 発現量を RNA-seq と RT-PCR で解析したところ、地上で同条件で栽培したミズナに比べ2 倍以上有意に増加する遺伝子が 8,258 個、減少する遺伝子が 14,170 個検出された。この変動遺伝子を Gene Ontology で分類すると、発現増加する遺伝子では oxidation-reduction process に属する遺伝子が最も多く、次いで protein phosphorylation に属する遺伝子であり両方で全体の 48%を占めた。発現減少する遺伝子では protein phosphorylation に属する遺伝子が最も多く全体の 38%を占めた。ROS マーカー遺伝子 32 個のうち 5 倍以上発現量が増加した遺伝子は 20 個あり、このうち 5 個あるホールマーク遺伝子の 4 個が 10 倍以上発現量が増加していた。ROS 消去関連酵素遺伝子では SOD, CAT, グルタチオンペルオキシダーゼ(GPX)を含む 20 個の遺伝子が 2 倍以上発現量が増加した。なかでも細胞内の酸化還元状態を減少させ酸化ストレスを軽減するチオレドキシンとグルタレドキシンの遺伝子発現量が 40 倍以上増加し、乾燥や塩ストレスで起こる酸化ストレスで発現量が増加し ROS 蓄積を減少させる機能をもつ alternative oxidase の遺伝子発現量が 9.2 倍増加した。

ROS は酸化ストレスを誘発する物質として認識されている一方、成長、分化、細胞周期、プログラム細胞死、ストレス防御等を制御する生体シグナル伝達物質として機能する。ROS シグナルは植物の生物的・非生物的ストレス応答に重要な役割を担う MAPK 経路により伝達される。シロイヌナズナでは、MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4 カスケードは ROS ストレスシグナルの制御を担う鍵となり(Pitzschke *et al.* 2009)、MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6 カスケードは低温や塩ストレスで誘導(Teige *et al.* 2004, Ichimura *et al.* 2000)、MEKK1-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 カスケードは細菌のフラジェリンにより誘導(Asai *et al.* 2002)、MKK4-MPK3 は塩ストレスで誘導(Kim *et al.* 2011)、OXI1-MPK3/MPK6 は ROS により誘導(Rentel *et al.* 2004)、OXI1-NDPK2-MPK3/MPK6 は低温と塩ストレスで誘導される(Moon *et al.* 2003)。宇宙環境で生育するミズナでは MEKK1, OXI1, MKK4, MPK3 が 5 倍以上発現量が増加しており、MEKK1-MKK4-MPK3, OXI1-MKK4-MPK3, OXI1-MPK3 カスケードが誘導されていることが示唆された(図2)。

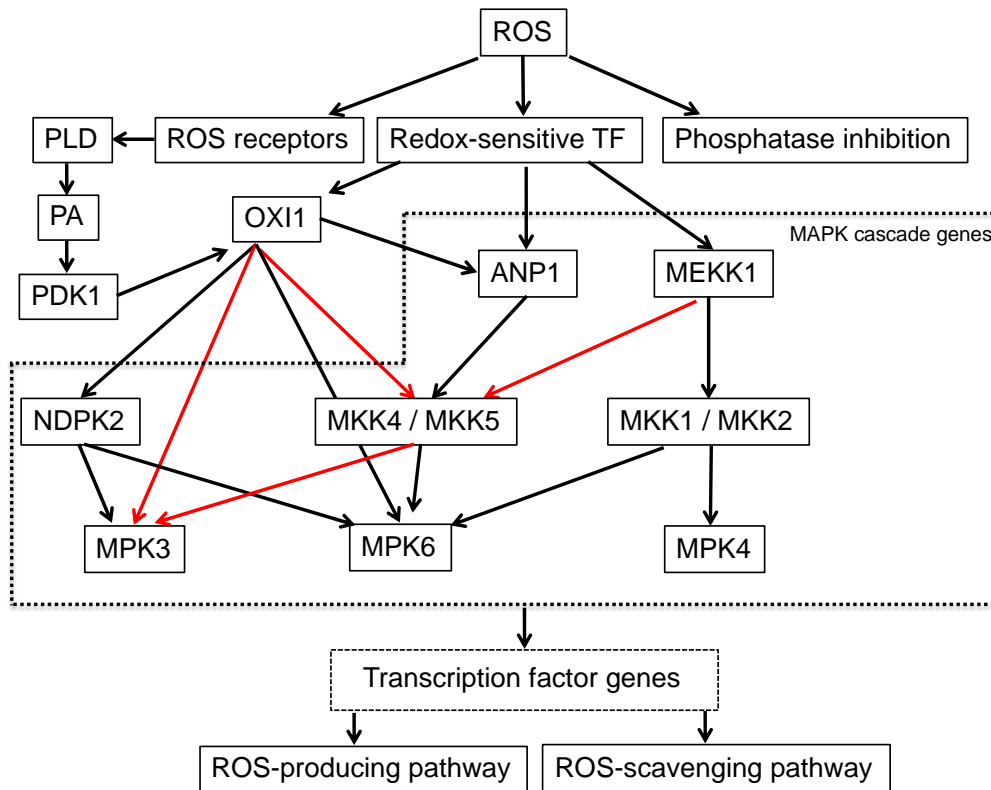


図2. 宇宙環境で生育したミズナの MAPK 経路

赤色矢印で示す MEKK1-MKK4-MPK3, OXI1-MKK4-MPK3, OXI1-MPK3 カスケードが誘導された。

ROS は酸化ストレスを誘発する物質として認識されている一方、成長、分化、細胞周期、プログラム細胞死、ストレス防御等を制御する生体シグナル伝達物質として機能する。ROS シグナルは植物の生物的・非生物的ストレス応答に重要な役割を担う MAPK 経路により伝達される。シロイヌナズナでは、MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4 カスケードは ROS ストレスシグナルの制御を担う鍵となり (Pitzschke *et al.* 2009)、MEKK1-MKK2-MPK4/MPK6 カスケードは低温や塩ストレスで誘導 (Teige *et al.* 2004; Ichimura *et al.* 2000)、MEKK1-MKK4/MKK5-MPK3/MPK6 カスケードは細菌のフラジェリンにより誘導 (Asai *et al.* 2002)、MKK4-MPK3 は塩ストレスで誘導 (Kim *et al.* 2011)、OXI1-MPK3/MPK6 は ROS により誘導 (Rentel *et al.* 2004)、OXI1-NDPK2-MPK3/MPK6 は低温と塩ストレスで誘導される (Moon *et al.* 2003)。宇宙環境で生育するミズナでは MEKK1, OXI1, MKK4, MPK3 が 5 倍以上発現量が増加しており、MEKK1-MKK4-MPK3, OXI1-MKK4-MPK3, OXI1-MPK3 カスケードが誘導されていることが示唆された (図2)。

このような宇宙環境で生育するオオムギとミズナの結果から、宇宙環境では植物体内で ROS 生成に起因する酸化ストレスが発生するが、植物は MAPK 経路を活性化して ROS シグナルを伝達し ROS 消去関連酵素遺伝子を誘導して酸化ストレスを軽減し、宇宙環境に適合し正常に生育することが示唆された。植物は地上の環境に適応するために発達させてきた環境ストレス応答や耐性獲得のための ROS 遺伝子ネットワークを宇宙環境に適合するために駆使していることは、植物が環境ストレス適応するための戦略を知る上で非常に興味深い。

### 3. ISS 船外に曝露した種子の生存能力

2007年に実施したISS実験「ISS船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk)ではオオムギ種子を船外曝露装置 Biorisk-MNS コンテナの金属筒に入れ ISS ロシアモジュール Pirs 船外に設置した (Sugimoto *et al.* 2011)。温度、湿度等気象条件のコントロールを全く行わない状態で 13, 18, 31 ヶ月間放置した後に地上へ搬送した。13, 18 ヶ月間船外曝露種子の発芽率はそれぞれ 82, 95%であったが、31 ヶ月間船外曝露種子は発芽しなかった。発芽した種子をワグナールポットで栽培したところ、13 ヶ月間船外曝露種子は地上で同期間 10°C で保管した種子と同様に生育、出穂、稔実した。生育したオオムギの農業特性(桿長, 穂長, 1000 粒重量, 稔実率)は船外曝露種子で  $85.3 \pm 1.6$  cm,  $6.2 \pm 0.1$  cm,  $48.8 \pm 0.8$  g,  $94.6 \pm 0.02\%$ , 地上保管種子で  $82.4 \pm 4.1$  cm,  $6.4 \pm 0.2$  cm,  $48.6 \pm 0.2$  g,  $93.8 \pm 0.01\%$  となり両者に有意差は認められず、また収穫した第二世代種子の発芽率と農業特性についても有意差は認められなかった。AFLP 分析と二次元電気泳動分析によりオオムギ葉中の DNA フラグメントやタンパク質スポットにも差は認められなかった。18 ヶ月間船外曝露種子から生育したオオムギの農業特性は(桿長, 穂長, 1000 粒重量, 稔実率)は  $60.6 \pm 3.7$  cm,  $5.8 \pm 0.2$  cm,  $41.0 \pm 2.0$  g,  $88.4 \pm 1.0\%$  となり、地上保管種子は  $76.0 \pm 6.4$  cm,  $5.9 \pm 0.1$  cm,  $42.3 \pm 2.3$  g,  $95.1 \pm 2.5\%$  と比べ桿長と稔実率に有意な低下が認められた。しかし、収穫した第二世代種子を栽培したオオムギの農業特性は地上保管種子と差が認められなかったことから、桿長と稔実率の低下は遺伝的変異によるものではないと考えられる。31 ヶ月間船外曝露種子では Cu, Zn, Sr, Ba の同位体比と放射性核種の peak net area に有意な差を認めることができず、種子が発芽しない原因は種子中の核反応や元素組成の変化によるものではないと思われる。このようにオオムギ種子は金属容器中(太陽光を遮光した状態)で 18 ヶ月間は農業特性、品質、遺伝子に変化無く宇宙環境で保管出来る可能性がある。一方、18 ヶ月から 31 ヶ月の船外曝露の間にオオムギ種子にどのような問題が発生し種子が死滅に至ったのか? この原因を明らかにすることは、種子を宇宙環境で長期間安定して保管するために重要であろう。

イネ種子 (*Oryza sativa*, cv. Nipponbare) でもオオムギ種子と同様に 1 年程度船外曝露後も高い生存率を保つ可能性について調査するため、2011 年に実施した ISS 実験「ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk)ではイネ種子を Biorisk-MNS コンテナの金属筒に入れ ISS ロシアモジュール Pirs 船外に設置した。温度、湿度等気象条件のコントロールを全く行わない状態で 13, 20, 31 ヶ月間放置した後に地上へ搬送した (Sugimoto *et al.* 2016)。13, 20 ヶ月間船外曝露種子の発芽率はそれぞれ 48, 7% であり、地上で同期間 10°C で保管した種子の発芽率 96, 76% に比べ著しく低下した。13 ヶ月間船外曝露種子と 13, 20 ヶ月地上保管種子は浸漬後 3 日目に発芽したが、20 ヶ月間船外曝露種子は 5 日後に発芽した。一方、31 ヶ月間船外曝露種子は発芽しなかった。種子、5 日目発芽種子、10 日目幼少体地上部と根の RNA 発現量を RNA-seq と RT-PCR で解析したところ、約 12% の遺伝子の発現量が船外曝露により変化を生じていたが、塩基配列中に有意な塩基置換は無く DNA 修復遺伝子の発現量も有意な差は無かったため、種子中の DNA 変異は宇宙環境により起こらないことが示唆された。そこで、種子発芽率や生存率に関与する種子発芽の初期に起こるタンパク質合成を担い速やかな発芽や種子寿命の維持に関与する long-lived mRNA 量について 13, 20 ヶ月間船外曝露種子で比較した (Sano *et al.* 2012, Dure & Waters 1965, Nakabayashi *et al.* 2005, Kimura & Nambara 2010)。イネ種子発芽に関与する 529 個の遺伝子のうち 2 倍以上発現量が減少するものは 13 ヶ月間船外曝露種子で 2 個だけであったが、20 ヶ月間船外曝露種子では HSP 遺伝子, cytochrome P450 遺伝子, カルシウムイオンシグナル遺

伝子を含む 39 個の遺伝子が減少した。このことから、20 ヶ月間船外曝露種子の発芽率低下や発芽の遅れは宇宙環境により long-lived mRNA がダメージを受けたことに起因することが示唆された。

#### 4. おわりに

植物は地球上で 40 億年におよぶ進化の中で遺伝子を変化させ、多様な生態系、種、個体を作り上げ、また植物ホルモンを介して様々な遺伝子やタンパク質の発現をコントロールして地球環境下で生き延びてきた。例えば、塩ストレスに強いオオムギでは、活性酸素種消去関連酵素が通常のオオムギよりも多く発現している (Sugimoto *et al.* 2009)。このように植物が獲得した環境適応能力は宇宙環境という環境ストレス下でも発揮できることが実証された。また、船外曝露における種子の生存能力は植物種の違いにより異なることが示唆された。「宇宙環境で生育する植物のストレス応答遺伝子発現」(Plants-2) 研究と ISS 船外曝露種子の生存能力と遺伝子発現」(Biorisk) 研究成果は、宇宙環境で栽培する作物や保存する種子に起こりうる問題や植物生産に不可欠な条件を的確に把握し、宇宙環境での保存や生育に適した作物の開発や有用な情報を提供することになり、人類の宇宙開発に貢献できるものと期待している。

#### 謝辞

本稿で紹介した研究はロシア科学アカデミー生物医学研究所 (IBMP) Sychev, V.N. 博士との国際共同研究「宇宙環境における植物の適応能力の解明と環境耐性植物の開発」のもとで実施された。また、本研究は Novikova, N.D. 博士 (IBMP), Levinskikh, M.A. 博士 (IBMP), Gusev, O. 博士 (理化学研究所), 大野陽子博士 (農研機構), Bingham, G. 博士 (ユタ州立大学), Wheeler, R. 博士 (NASA), 木原 誠博士 (サッポロビール (株)), 石井 誠博士 (岡山大学), (財) 大原奨農会研究助成金の支援を得て遂行した。

#### 引用文献

- Alston, J.A. 1991. Seeds in space experiment. in LDEF: 69 months in space. First-post-retrieval symposium, edited by Levine, A.S., Kissimmee, FL, p 1625.
- Asai, T., Tena, G., Plotnikova, J., Willmann, M.R., Chiu, W.L., Gomez-Gomez, L., Boller, T., Ausubel, F.M., & Sheen, J. 2002. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* 415: 977–983.
- Barjaktarović, Z., Nordheim, A., Lamkemeyer, T., Fladerer, C., Madlung, J., & Hampp, R. 2007. Time-course of changes in protein amounts of specific proteins upon exposure to hyper-g, 2-D clinorotation and random positioning of *Arabidopsis* cell cultures. *J. Exp. Bot.* 58: 4357–4363.
- Barjaktarović, Z., Schütz, W., Madlung, J., Fladerer, C., Nordheim, A., & Hampp, R. 2009. Changes in the effective gravitational field strength affect the state of phosphorylation of stress-related proteins in callus cultures of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 60: 779–789.
- Bayonove, J.F., Raffi, J.J., & Agnel, J-P.L. 1994. Investigation on rice embryos and seeds after the LDEF flight: electronic spin resonance identification. *Adv. Space Res.* 14: 53–57.
- Dure, L. & Waters, L. 1965. Long-lived messenger RNA: evidence from cotton seed germination. *Science* 147: 410–412.

- Gostimsky, S.S., Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Kokaeva, Z.G., Dribnokhodova, O.P., Khartina, G.A., & Bingham, G. 2007. The study of the genetic effects in generation of pea plants cultivated during the whole cycle of ontogenesis on the board of RS ISS. *Genetika* 43: 1050-1057.
- Ichimura, K., Mizoguchi, T., Yoshida, R., Yuasa, T., & Shinozaki, K. 2000. Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases ATMPK4 and ATMPK6. *Plant J.* 24: 655-665.
- Kahn, B.A. 1996. No evidence of adverse effects on germination, emergence, and fruit yield due to space exposure to tomato seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 414-418.
- Kim, S.H., Woo, D.H., Kim, J.M., Lee, S.Y., Chung, W.S., & Moon, Y.H. 2011. *Arabidopsis* MKK4 mediates osmotic-stress response via its regulation of MPK3 activity. *Biochem. Bioph. Res. Commun.* 412: 150-154.
- Kimura, M. & Nambara, E. 2010. Stored and neosynthesized mRNA in *Arabidopsis* seeds: effects of cycloheximide and controlled deterioration treatment on the resumption of transcription during imbibition. *Plant Mol. Biol.* 73: 119-129.
- Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Signalova, O.B., Derendyaeva, T.A., Nefedova, E.L., Musgrave, M.E., Campbell, U.F., Konlin, D., & Bingham, G.E. 2002. Some characteristics of plant seeds formed under conditions of microgravity. *Aviakosm. Ekol. Med.* 36: 62-64.
- Levinskikh M.A., Sychev, V.N., Derendyaeva, T.A., Signalova, O.B., Podolsky, I.G., Gostimsky, S.A., & Bingham, G. 2005. Characteristics of growth, development, and genetic status of pea plants grown in the Lada space greenhouse. *Aviakosm. Ekol. Med.* 39: 38-43.
- Martzivanou, M. & Hampp, R. 2003. Hyper-gravity effects on the *Arabidopsis* transcriptome. *Plant Physiol.* 118: 221-231.
- Mei, M., Qiu, Y., He, Y., Bucker, H., & Yang, C.H. 1994. Mutational effects of space flight on *Zea mays* seeds. *Adv. Space Res.* 14: 33-39.
- Moon, H., Lee, B., Choi, G., Shin, S., Prasad, D.T., Lee, O., Kwak, S.S., Kim, D.H., Nam, J., Bahk, J., Hong, J.C., Lee, S.Y., Cho, M.J., Lim, C.O., & Yun, D.J. 2003. NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 358-363.
- Nakabayashi, K., Okamoto, M., Koshiha, T., Kamiya, Y., & Nambara, E. 2005. Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J.* 41, 697-709.
- Paul, A.L., Popp, P. M., Gurley, W.B., Guy, C., Norwood, K.L., & Ferl, R. J. 2005. *Arabidopsis* gene expression patterns are altered during spaceflight. *Adv. Space Res.* 36: 1175-1181.
- Paul, A.L., Zupanska, A.K., Ostrow, D.T., Zhang, Y., Sun, Y., Li, J.L., Shanker, S., Farmerie, W.G., Amalfitano, C.E., & Ferl, R.J. 2012. Spaceflight transcriptomes: unique responses to a novel environment. *Astrobiol.* 12: 40-56.
- Pitzschke, A., Djamei, A., Bitton, F., & Hirt, H. 2009. A major role of the MEKK1-MKK1/2-MPK4 pathway in ROS signalling. *Mol Plant* 2: 120-137.

- Rentel, M.C., Lecourieux, D., Ouaked, F., Usher, S.L., Petersen, L., Okamoto, H., Knight, H., Peck, S.C., Grierson, C.S., Hirt, H., & Knight, M.R. 2004. OXI1 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature* 427: 858-861.
- Rizzo, A.M., Corsetto, P.A., Montorfano, G., Milani, S., Zava, S., Tavella, S., Cancedda, R., & Berra, B. 2012. Effects of long-term space flight on erythrocytes and oxidative stress of rodents. *PLoS One* 7: e32361.
- Sano, N., Permana, H., Kumada, R., Shinozaki, Y., Tanabata, T., Yamada, T., Hirasawa, T., & Kanekatsu, M. 2012. Proteomic analysis of embryonic proteins synthesized from long-lived mRNAs during germination of rice seeds. *Plant Cell. Physiol.* 53: 687-698.
- Shagimardanova, E.I., Gusev, O.A., Sychev, V.N., Levinskikh, M.A., Sharipova, M.R., Il'nskaya, O.N., Bingham, G., & Sugimoto, M. 2010. Expression of stress response genes in Barley *Hordeum vulgare* in spaceflight environment. *Mol. Biol.* 44: 734-740.
- Stein, T.P. 2002. Space flight and oxidative stress. *Nutrition* 18: 867-871.
- Sugimoto, M. & Takeda, K. 2009. Proteomic analysis of specific proteins in the root of salt-tolerant barley. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73: 2762-2765.
- Sugimoto, M., Ishii, M., Mori, I.C., Shagimardanova, E., Gusev, O.A., Kihara, M., Hoki, T., Sychev, V.N., Levinskikh, M.A., Novikova, N.D., & Grigoriev, A.I. 2011. Viability of barley seeds after long-term exposure to outer side of international space station. *Adv. Space Res.* 48: 1155-1160.
- Sugimoto, M., Oono, Y., Gusev, O., Matsumoto, T., Yazawa, T., Levinskikh, M.A., Sychev, V.N., Bingham, G., Wheeler, R., & Hummerick, N. 2014. Genome-wide expression analysis of reactive oxygen species gene network in Mizuna plants grown in long-term spaceflight. *BMC Plant Biol.* 14: 4.
- Sugimoto, M., Oono, Y., Kawahara, Y., Gusev, O., Maekawa, M., Matsumoto, T., Levinskikh, M., Sychev, V., Novikova, N., & Grigoriev, A. 2016. Gene expression of rice seeds surviving 13- and 20-month exposure to space environment. *Life Sci. Space Res.* 11: 10-17.
- Teige, M., Scheikl, E., Eulgem, T., Doczi, R., Ichimura, K., Shinozaki, K., Dangl, J.L., & Hirt, H. 2004. The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Mol. Cell* 15: 141-152.
- Zimmermann, M.W., Gartenbach, K.E., & Kranz, A.R. 1994. First radiobiological results of LDEF-1 experiment A0015 with *Arabidopsis* seed embryos and *Sordaria* fungus spores. *Adv. Space Res.* 14: 47-51.